茶多酚对奥尼罗非鱼生长、消化功能、免疫性能和抗病力的影响

梁高杨[1,2,3] 李小勤[1,2,3] 杨 航[123] POOLSAWAT Lumpan[1,2,3] 高擘为[1,2,3] 冷向军[1,2,3*]

（1. 水产科学国家级教学示范中心，上海海洋大学，上海 201306；2.农业部鱼类营养与环境生态研究中心，上海海洋大学，上海 201306；3.水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心，上海 201306）

摘 要：本试验旨在研究茶多酚对奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*)生长、消化功能、免疫性能和抗病力的影响。在基础饲料中分别添加 0（对照组）、100、200、400、600、800 mg/kg 茶多酚，配制 6 种试验饲料，饲喂初始体重为（6.09±0.07） g 的奥尼罗非鱼 9 周，每组 3 个重复，每个重复 25 尾鱼。结果表明：与对照组相比，各茶多酚添加组的增重率和饲料系数均无显著变化(P>0.05)，但 100、200 mg/kg 茶多酚组增重率有提高的趋势，而 400~800 mg/kg 茶多酚组增重率有降低的趋势，其中以 200 mg/kg 茶多酚组增重率最高。饲料添加茶多酚对罗非鱼全鱼水分、粗蛋白质、粗灰分含量和粗蛋白质表观消化率无显著影响（P>0.05），但与对照组相比，高添加量(600、800 mg/kg)的茶多酚显著降低了干物质表观消化率，肠道淀粉酶、蛋白酶活性和全鱼粗脂肪含量（P<0.05）。与对照组相比，饲料中添加 200、400、600 和 800 mg/kg 茶多酚均显著增加了血清超氧化物歧化酶（SOD）和溶菌酶（LZM）活性（P<0.05），而血清丙二醛（MDA）含量则随茶多酚添加量的增加表现出先降低后增加的趋势，其中 200 mg/kg 茶多酚组的血清 SOD 活性最高、血清 MDA 含量最低，400 mg/kg 茶多酚组的血清 LZM 活性最高。嗜水气单胞菌攻毒后 48 和 96 h，200、400、600 和 800 mg/kg 茶多酚组的累积死亡率均较对照组显著降低（P<0.05），其中 400 mg/kg 茶多酚组的累积死亡率最低。综上，茶多酚可提高奥尼罗非鱼的免疫性能，降低嗜水气单胞菌攻毒后的死亡率，但对生长性能没有显著影响。奥尼罗非鱼饲料中茶多酚的建议添加量为 200~400 mg/kg。

关键词：茶多酚；奥尼罗非鱼；生长；消化率；免疫性能；抗病力

中图分类号： 文献标识码： 文章编号：

茶多酚是从茶叶及茶叶副产品中提取的多羟基酚类化合物，占茶叶干重的 30%左右，主要成分包括儿茶素、黄酮、酚酸和花青素等化合物及其衍生物[1]。茶多酚具有抗氧化、增

收稿日期：2018-02-06
基金项目：国家自然科学基金（31772858）
作者简介：梁高杨（1989—），男，河南驻马店人，硕士研究生，从事水生动物营养与饲料研究。E-mail: lianggaoyang1234@126.com
*通信作者：冷向军，教授，博士生导师。E-mail: xjleng@shou.edu.cn

强免疫、预防疾病和调节脂代谢的作用[2-5]，在食品保鲜、临床医学和畜牧养殖等领域已被广泛应用。近年来，茶多酚在水产上的研究也开始受到重视，徐奇友等[6]在饲料中添加 25~100 mg/kg 茶多酚饲养虹鳟（*Oncorhynchus mykiss*），显著提高了肝脏免疫酶活性。Hwang 等[7]给许氏平鲉（*Sebastes schlegeli*）投食含 1%~5%绿茶提取物的饲料后，鱼体增重率和抗应激能力显著提高。龙萌等[8-9]用含有 50 和 100 mg/kg 茶多酚的饲料喂养团头鲂幼鱼（*Megalobrama amblycephala*），也显著提高了增重率和肝脏抗氧化能力，并降低了鱼体感染嗜水气单胞菌后的死亡率。

抗生素的长期使用带来的病原菌抗药性和药物残留问题严重危害了水产养殖的发展[10]，寻找安全有效的抗生素替代产品一直是水产研究的热点。茶多酚具有广泛的抗菌谱，能够抑制多种病原菌的生长[11-12]，并且茶多酚能够提高鱼类的免疫性能[13-14]，是一种潜在的抗生素替代物。本试验以奥尼罗非鱼（*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*）为研究对象，在饲料中添加不同水平的茶多酚，考察其对奥尼罗非鱼生长、消化功能、免疫性能和抗嗜水气单胞菌（*Aeromonas hydrophila*）感染能力的影响，为茶多酚在水产养殖中的应用提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验饲料

以鱼粉、豆粕、菜籽粕、棉籽粕为主要蛋白质源，豆油为主要脂肪源，配制基础饲料（粗蛋白质含量 32.06%，粗脂肪含量 5.62%）。在基础饲料中分别添加 0（对照组）、100、200、400、600、800 mg/kg 的茶多酚[14]，配制 6 种试验饲料，另在饲料中加入 0.05%氧化钇（Y_2O_3），以测定营养物质表观消化率。主要饲料原料粉碎后过 40 目筛，逐级混合，用单螺杆挤压机（SLP-45，中国水产科学研究院渔业机械研究所）制成直径 2 mm 的硬颗粒沉性饲料，制粒温度为（85±5）℃，55 ℃烘干后 4 ℃冰箱保存。基础饲料组成及营养水平见表 1。茶多酚由山东丰泰生物科技有限公司提供，纯度为 98%。

表 1　基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1　Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis)　　%

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients1)	

鱼粉 Fish meal	4.00
豆粕 Soybean meal	24.00
棉籽粕 Cottonseed meal	21.00
菜籽粕 Rapeseed meal	18.00
次粉 Wheat middling	20.00
米糠 Rice bran	7.60
豆油 Soybean oil	3.00
磷酸二氢钙 $Ca(H_2PO_4)_2$	1.50
维生素预混料 Vitamin premix[2)]	0.25
矿物质预混料 Mineral premix[3)]	0.30
氯化胆碱 Choline chloride （50%）	0.30
氧化钇 Y_2O_3	0.05
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels	
干物质 DM	92.09
粗蛋白质 CP	32.06
粗脂肪 EE	5.62
粗灰分 Ash	7.42

1) 饲料原料购自上海农好饲料有限公司，其中鱼粉（秘鲁）、豆粕、菜籽粕、棉籽粕的粗蛋白质含量分别为65.18%、44.65%、36.64%、44.77%。The feed ingredients were purchased from the *Shanghai Nonghao* Feed Co., Ltd., and the crude protein content of fish meal (Peru), soybean meal, rapeseed meal and cottonseed meal was 65.18%, 44.65%, 36.64% and44.77%, respectively.

2) 维生素预混料为每千克饲料提供 The vitamin premix provided the following per kg of the diet:VA 6 000 IU,VD_3 1 000 IU,VE 60 IU,VK 5 mg,VB_1 15 mg,VB_2 15 mg,VB_3 30 mg,VB_5 35 mg,VB_6 20 mg,生物素 biotin 2 mg,叶酸 folic acid 3 mg,VB_{12} 0.03 mg。

3) 矿物质预混料为每千克饲料提供 The mineral premix provided the following per kg of

diets:$Ca(IO_3)_2$ 0.04 g,$CoCl_2\cdot 6H_2O$ 0.01 g,$FeSO_4\cdot H_2O$ 0.446 g,$ZnSO_4\cdot H_2O$ 0.232 g,$MnSO_4\cdot H_2O$ 0.063 g,$NaSeO_3\cdot 5H_2O$ 0.01 g,$MgSO_4\cdot 7H_2O$ 0.645 g。

1.2 试验用鱼及饲养管理

养殖试验在上海海洋大学滨海特种水产养殖场进行，养殖时间为 9 周。试验用奥尼罗非鱼购于上海新场罗非鱼良种养殖场，于试验开始前用对照组饲料驯养 1 周。选取 450 尾平均体重为（6.09±0.07） g 的奥尼罗非鱼，随机分为 6 组，每组 3 个重复，每个重复 25 尾鱼，以重复为单位随机分配到 18 口网箱（1.5 m×1.0 m×1.2 m）中，每 6 口网箱置于一口室内水泥池(5.0 m×3.0 m×1.2 m)内，共 3 口水泥池，位于同一室内车间内，水源均为过滤后的池塘水。试验鱼表观饱食投喂，日投喂 3 次（08:00、12:00、17：00）。试验期间，每周换水 2 次，每次换水 1/3，水温（28±2）℃，pH 7.5±0.5，溶氧浓度＞6.0 mg /L，氨氮浓度＜0.2 mg/L。

1.3 样品采样和指标测定

1.3.1 生长指标

养殖试验结束后，禁食 24 h，记录试验鱼尾数并称重，用于计算生长指标；另每口网箱随机取 3 尾鱼，测量体长，解剖取内脏和肝脏，称重用于计算形体指标。相关计算公式如下：

增重率（weight gain rate,WGR,%）=100×（终末均重-初始均重）/初始均重；

饲料系数（feed conversion ratio,FCR）=总摄食量/（终末均重-初始均重）；

存活率（survival rate,SR,%）=100×终末鱼尾数/初始鱼尾数；

采食量（feed intake,FI, g）=总摄食量/鱼尾数；

肝体指数（hepatosomatic index,HSI,%）=100×肝脏重/体重；

脏体指数（viscerosomatic index,VSI,%）=100×内脏重/体重；

肥满度（condition factor,CF,g/cm^3）=100×体重/体长 ^{3}。

1.3.2 饲料和全鱼常规成分分析

在鱼体称重之后，每口网箱随机取 3 尾鱼，用于全鱼常规成分分析。饲料和全鱼中水分含量的测定采用 105 ℃烘干法，粗蛋白质含量的测定采用凯氏定氮法（全自动凯氏定氮仪，Kjeltec-2300，福斯有限公司，瑞典），粗脂肪含量的测定采用索氏抽提法（脂肪测定仪，SOX-416，格哈特有限公司，德国），粗灰分含量的测定采用 550 ℃马弗炉灼烧法（程控箱式电炉，SXL-1008，上海精宏实验仪器有限公司）

1.3.3　血清免疫指标的测定

每口网箱另随机取 3 尾鱼，尾静脉取血，4 ℃离心（3 000 r/min，10 min），取血清分装后-80 ℃冰箱保存。血清超氧化物歧化酶（superoxide dismutase,SOD）、碱性磷酸酶（alkline phosphatase,AKP）、溶菌酶（lysozyme,LZM）活性和丙二醛（malondialdehyde,MDA）含量使用南京建成生物工程研究所生产的生化试剂盒测定，按照试剂盒说明书进行操作。SOD 和 AKP 活性使用酶标仪（Synergy 2，伯腾仪器有限公司，美国）测定；MDA 含量和 LZM 活性使用分光光度计（722 型，上海精密科学仪器有限公司）测定。

1.3.4　肠道消化酶活性的测定

将每口网箱抽血后的 3 尾鱼在冰上解剖后取前肠（胃到肠道第 1 个弯曲点），生理盐水冲去食糜，-80 ℃冰箱保存。测定前，将前肠于 4 ℃解冻，加 9 倍体积生理盐水，冰水浴匀浆，4 ℃离心（3 000 r/min，10 min），取上清用于消化酶活性的测定。

淀粉酶活性采用南京建成生物工程研究所生产的生化试剂盒测定，组织中每毫克蛋白质在 37 ℃与底物作用 30 min，水解 10 mg 淀粉定义为 1 个淀粉酶活性单位。蛋白酶活性采用福林酚法测定，以 2%酪蛋白溶液为底物，每微克组织蛋白质在 pH 7.2、37 ℃条件下每分钟分解酪蛋白生成 1 μg 酪氨酸的酶量为 1 个蛋白酶活性单位。肠道蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝法。

1.3.5　营养物质表观消化率测定

养殖试验开始 30 d 后，在正常投喂的同时，连续 10 d 采集粪便，用于测定营养物质表观消化率。每次于投喂 2 h 后，虹吸法收集粪便，取包膜完整、连续的粪便于 60 ℃烘干，-20 ℃保存待测。饲料和粪便中 Y_2O_3 含量测定采用电感耦合等离子体发射光谱法（等离子体发射光谱仪，Optima 8000DV，帕金埃尔默股份有限公司，美国），粪便中粗蛋白质含量测定同 1.3.2 中方法。

干物质表观消化率（%）=100×（1-b/B）；

粗蛋白质表观消化率（%）=100×[1-(A/a×b/B)]。

式中：a、A 分别表示饲料和粪便中粗蛋白质含量；b、B 分别表示饲料和粪便中 Y_2O_3 含量。

1.3.6　嗜水气单胞菌攻毒试验

养殖试验结束后，每个网箱取 12 尾鱼，进行嗜水气单胞菌攻毒试验。攻毒所用嗜水气

单胞菌来自上海海洋大学国家水生动物病原库(吕利群实验室)。将菌种接种于营养琼脂平板，置于 28 ℃恒温培养箱（DHP-9082，上海善志仪器设备有限公司），纯化培养 24 h，挑取单克隆菌株于无菌营养肉汤液体培养基，28 ℃培养 30 h，3 500 r/min 离心 5 min，去除上清，无菌生理盐水稀释至。每尾试验鱼腹腔注射浓度为 1.1×10^8 CFU/mL 的嗜水气单胞菌菌液 0.2 mL（浓度和剂量根据预试验确定）。记录攻毒后 1、24、48、96 h 死亡个数，计算累积死亡率。

累积死亡率（cumulative mortality,CM,%）=100×累积死亡尾数/初始鱼总尾数。

1.4 统计分析

试验数据（存活率除外）用平均值±标准差（mean±SD）表示，采用 SPSS 22.0 软件对试验数据进行单因素方差分析（one-way ANOVA），差异显著时，用 Duncan 氏法进行多重比较，P<0.05 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 茶多酚对奥尼罗非鱼生长和形体指标的影响

茶多酚对奥尼罗非鱼生长和形体指标的影响见表 2。经过 9 周的养殖试验，各组奥尼罗非鱼的存活率均为 100%，且在采食量上无显著差异(P>0.05)。与对照组相比，各茶多酚添加组的增重率和饲料系数均无显著变化(P>0.05)，但 100 和 200 mg/kg 茶多酚组增重率有提高的趋势，而 200、400 和 800 mg/kg 茶多酚组增重率有降低的趋势，且 800 mg/kg 茶多酚组的增重率较 200 mg/kg 茶多酚组显著降低（P<0.05）。以增重率为评价指标，得出奥尼罗非鱼增重率（y）与茶多酚添加量（x）之间的一元二次回归方程为 $y=-0.000\,3x^2+0.122\,4x+1\,500$($R^2$=0.508 4)，由回归方程得出，当茶多酚添加量为 204 mg/kg 时，奥尼罗非鱼具有最高的增重率。在形体指标方面，600 和 800 mg/kg 茶多酚组奥尼罗非鱼的肝体指数显著低于对照组（P<0.05）；肥满度和脏体指数各组之间无显著差异（P>0.05）。

表 2　茶多酚对奥尼罗非鱼生长和形体指标的影响

Table 2　Effects of TP on growth and physical indexes of hybrid tilapia

项目	茶多酚添加量 TP supplemental level/(mg/kg)					
Items	0	100	200	400	600	800
初始均重 IBW/g	6.11±0.09	6.07±0.05	6.12±0.04	6.11±0.11	6.07±0.06	6.12±0.07

终末均重 FBW/g	96.23±1.38^{ab}	96.43±3.22^{ab}	100.59±3.48^{b}	95.87±3.73^{ab}	93.55±6.54^{ab}	91.92±3.09^{a}
增重率 WGR/%	1 476.1±39.1^{ab}	1 507.2±53.7^{ab}	1 576.4±58.0^{b}	1 468.6±70.1^{ab}	1 459.1±109.0^{ab}	1 432.0±51.5^{a}
饲料系数 FCR	1.21±0.02^{ab}	1.21±0.04^{ab}	1.16±0.05^{a}	1.19±0.01^{ab}	1.23±0.05^{ab}	1.27±0.04^{b}
采食量 FI/(g/尾)	109.6±0.6	109.5±0.5	109.6±0.6	107.3±3.8	107.6±4.0	108.9±1.1
存活率 SR/%	100	100	100	100	100	100
肥满度 CF/(g/cm^3)	4.48±0.19	4.42±0.31	4.35±0.22	4.44±0.17	4.56±0.26	4.49±0.36
肝体指数 HSI/%	2.14±0.19^{b}	2.15±0.20^{b}	2.05±0.17^{ab}	2.04±0.24^{ab}	1.87±0.10^{a}	1.83±0.15^{a}
脏体指数 VSI/%	8.64±0.70	8.36±0.62	8.90±0.88	9.00±0.88	8.53±0.86	8.09±1.13

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著（*P*>0.05），不同字母表示差异显著（*P*<0.05）。下表同。

In the same row, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference (*P*>0.05), while with different letter superscripts mean significant difference (*P*<0.05). The same as below.

2.2 茶多酚对奥尼罗非鱼体成分的影响

茶多酚对奥尼罗非鱼体成分的影响见表 3。与对照组相比，饲料中添加 600、800 mg/kg 茶多酚显著降低了全鱼粗脂肪含量（*P*<0.05）。全鱼水分、粗蛋白质和粗灰分含量各组之间无显著差异（*P*>0.05）。

表 3 茶多酚对奥尼罗非鱼体成分的影响（湿重基础）

Table 3 Effects of TP on body composition of hybrid tilapia (wet weight basis) %

项目	茶多酚添加量 TP supplemental level/(mg/kg)					
Items	0	100	200	400	600	800
水分 Moisture	72.06±1.46	71.83±1.12	72.57±0.85	71.78±0.83	72.27±1.32	72.27±0.99
粗蛋白质 CP	16.48±0.74	16.49±0.73	15.99±0.52	16.19±0.37	16.33±0.57	15.94±0.66
粗脂肪 EE	6.83±0.29^{b}	6.84±0.44^{b}	6.76±0.44^{ab}	6.46±0.23^{ab}	6.07±0.37^{a}	6.06±0.39^{a}
粗灰分 Ash	3.74±0.16	3.77±0.22	3.67±0.13	3.66±0.15	3.63±0.27	3.68±0.13

2.3 茶多酚对奥尼罗非鱼营养物质表观消化率和肠道消化酶活性的影响

茶多酚对奥尼罗非鱼营养物质表观消化率和肠道消化酶活性的影响见表 4。随着饲料中茶多酚添加量的增加，干物质表观消化率呈现先增加后降低的规律，在 200 mg/kg 茶多酚组显著高于其他组（*P*<0.05）；粗蛋白质表观消化率不受茶多酚添加量的显著影响(*P*>0.05)。与

对照组相比，高添加量(600、800 mg/kg)的茶多酚显著降低了肠道蛋白酶和淀粉酶活性（P<0.05）。

表 4　茶多酚对奥尼罗非鱼营养物质表观消化率和肠道消化酶活性的影响

Table 4　Effects of TP on nutrient apparent digestibility and intestinal digestive enzyme activities of hybrid tilapia

项目 Items	茶多酚添加量 TP supplemental level/(mg/kg) 0	100	200	400	600	800
营养物质表观消化率 Nutrient apparent digestibility/%						
干物质 DM	67.24±0.29^{b}	68.12±0.42^{c}	69.79±0.62^{d}	68.33±0.58^{c}	66.30±0.28^{a}	66.43±0.18^{a}
粗蛋白质 CP	87.99±1.08	86.65±0.67	88.34±0.63	87.38±1.48	87.08±0.66	87.65±0.50
肠道消化酶活性 Intestinal digestive enzyme activities/(U/mg prot)						
蛋白酶 Protease	1 383.7±79.1^{b}	1 462.6±78.4^{b}	1 456.1±61.4^{b}	1 369.8±59.8^{b}	1 177.8±47.7^{a}	1 124.6±41.0^{a}
淀粉酶 Amylase	11.55±0.81^{b}	12.14±0.42^{b}	12.64±0.70^{b}	11.83±0.47^{b}	9.04±0.89^{a}	9.12±0.13^{a}

2.4　茶多酚对奥尼罗非鱼血清免疫指标的影响

茶多酚对奥尼罗非鱼血清免疫指标的影响见表 5。与对照组相比，饲料中添加 200、400、600 和 800 mg/kg 茶多酚均显著增加了血清 SOD 和 LZM 活性（P<0.05）。二次曲线回归分析表明，茶多酚添加量为 438.89、412.35 mg/kg 时，SOD 和 LZM 活性分别最高（图 1）。血清 MDA 含量随茶多酚添加量的增加表现出先降低后升高的规律，其中在 200 mg/kg 茶多酚组具有最小值。血清 AKP 活性各组之间无显著差异（P>0.05）。

表 5　茶多酚对奥尼罗非鱼血清免疫指标的影响

Table 5　Effects of TP on serum immunological indexes of hybrid tilapia

项目 Items	茶多酚添加量 TP supplemental level/(mg/kg) 0	100	200	400	600	800
超氧化物歧化酶 SOD/(U/mL)	38.09±3.80^{a}	42.24±1.16^{ab}	56.71±5.08^{c}	56.30±4.46^{c}	47.22±3.84^{b}	44.42±2.28^{b}
溶菌酶 LZM/(U/mL)	372.37±35.14^{a}	524.95±41.78^{bc}	554.35±27.98^{c}	560.16±42.88^{c}	552.04±42.31^{c}	469.03±31.47^{b}

碱性磷酸酶 AKP/(金氏单位/dL)	2.03±0.28	1.89±0.09	2.18±0.22	2.08±0.21	2.18±0.19	2.04±0.15
丙二醛 MDA/(nmol/mL)	6.11±0.45[bc]	5.69±0.18[b]	4.66±0.20[a]	5.75±0.55[b]	6.51±0.27[c]	6.30±0.43[bc]

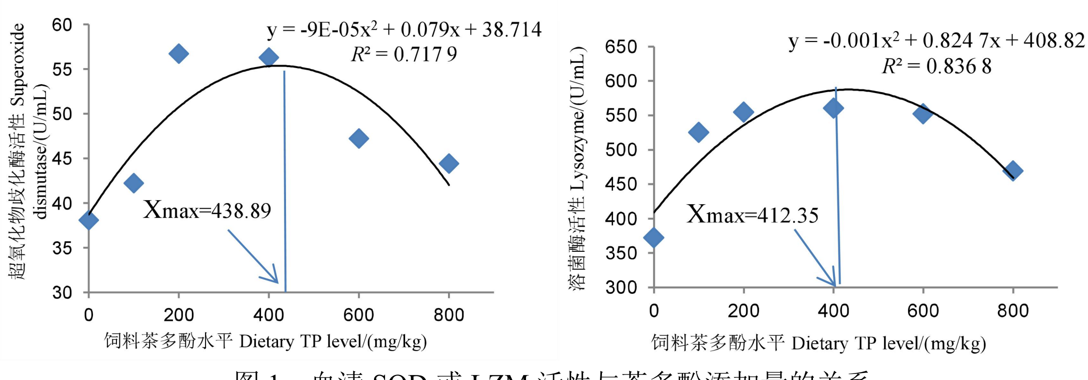
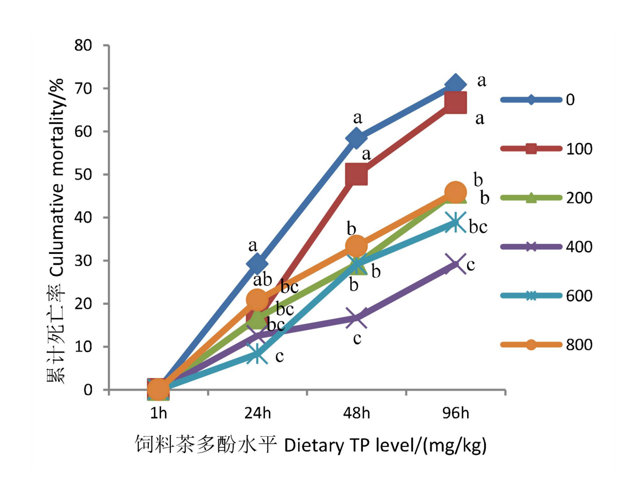


图 1 血清 SOD 或 LZM 活性与茶多酚添加量的关系

Fig. 1 Relationships between TP supplemental level and serum SOD or LZM activities of hybrid tilapia

2.5 茶多酚对嗜水气单胞菌攻毒后奥尼罗非鱼累积死亡率的影响

由图 2 可见，攻毒后 1 h，各组试验鱼均无死亡(存活率为 100%)；攻毒后 24 h，100、200、400 和 600 mg/kg 茶多酚组的累积死亡率显著低于对照组（P<0.05)；攻毒后 48 和 96 h，200、400、600 和 800 mg/kg 茶多酚组的累积死亡率均显著低于对照组（P<0.05)，其中 400 mg/kg 茶多酚组累积死亡率最低。



相同时间点数据点标注不同字母表示差异显著(P<0.05)。

Data points at the same time point with different small letters mean significant difference ($P<0.05$).

图 2 茶多酚对嗜水气单胞菌攻毒后奥尼罗非鱼累积死亡率的影响

Fig.2 Effects of TP on cumulative mortality of hybrid tilapia challenged with *Aeromonas hydrophila*

3 讨 论

3.1 茶多酚对奥尼罗非鱼生长和消化功能的影响

茶多酚在水产动物上的研究相对较少。研究发现，饲料中添加 50~100 mg/kg 茶多酚，显著提高了团头鲂的增重率和特定生长率，上调了生长相关基因 *MaGHR*2 的表达[8]；饲料中添加 50~100 mg/kg 茶多酚后，在数值上提高了虹鳟的增重率，但差异未达显著水平[6]。在罗非鱼（*Oreochromis niloticus*）的试验中，饲料中添加 166 mg/kg 茶多酚显著提高了鱼体的增重率，但添加 333 mg/kg 茶多酚未对生长性能产生有益影响[14]。同样地，饲料中添加 50 mg/kg 茶多酚显著提高了青鱼（*Mylopharyngodon piceus*）的特定生长率，而添加 500 mg/kg 茶多酚显著降低了青鱼的特定生长率[15]。本试验在饲料中添加 100~800 mg/kg 茶多酚，结果发现对罗非鱼生长性能无显著影响，但 100、200 mg/kg 茶多酚有提高增重率的趋势，而 400、600 和 800 mg/kg 茶多酚有降低增重率的趋势，且 800 mg/kg 茶多酚组的增重率较 200 mg/kg 茶多酚组显著降低。这表明，高添加量的茶多酚对鱼类生长可能具有抑制作用。Zheng 等[16]发现，当饲料中绿茶渣添加量超过 3.6%时，罗非鱼的增重率降低，饲料系数增加。Welker 等[17]也发现，虹鳟摄食含 4%绿茶的饲料后，增重率显著降低，饲料系数显著升高，这可能也是高添加量的茶多酚所致。茶多酚是从茶叶中提取的酚类化合物，而酚类化合物通常被认为是饲料中的抗营养因子，能够降低营养物质利用率和动物生长性能[18-19]。

本试验中，添加 100~400 mg/kg 茶多酚显著增加了奥尼罗非鱼的干物质表观消化率，但高添加量（600、800 mg/kg）的茶多酚则显著降低了干物质表观消化率，肠道淀粉酶和蛋白酶活性。在青鱼饲料中添加 50 mg/kg 茶多酚，肠道蛋白酶和脂肪酶活性显著增加，而添加 500 mg/kg 茶多酚后，肠道蛋白酶和脂肪酶活性显著降低[15]。在小鼠饲粮中添加 0.4%茶多酚后发现显著降低了粗蛋白质表观消化率[20]，用 0.4%茶多酚灌喂小鼠后，肠道对水分、葡萄糖、胆固醇、氨基酸和矿物质的消化率显著降低[21]。茶多酚能够缓解肠道氧化应激，促进

肠道有益菌的生长[22]，这有利于提高动物的消化吸收功能；但过量的茶多酚可能像其他多酚类物质一样，能够与蛋白质、糖类物质和矿物质结合，进而降低其消化率[23-25]。关于茶多酚影响鱼类消化吸收功能的作用机制需要进一步的研究。

3.2　茶多酚对奥尼罗非鱼体成分的影响

茶多酚可通过调节脂肪代谢相关激素如胰岛素样生长因子Ⅰ、瘦素和脂联素等的含量和脂肪代谢相关信号通路基因的表达，降低摄食高脂饲粮小鼠的体脂肪含量[26-28]。分别灌喂80、160 mg/kg茶多酚后，肉鸡皮下脂肪厚度、肌间脂肪宽度和腹脂率均显著降低[29]。饲料中6.4%绿茶渣显著降低了罗非鱼全鱼粗脂肪含量，而全鱼水分、粗蛋白质含量无显著差异[16]。本试验结果与之类似，饲料中添加茶多酚对奥尼罗非鱼全鱼水分和粗蛋白质含量无显著影响，但是高添加量（600、800 mg/kg）的茶多酚显著降低了全鱼粗脂肪含量。这在虹鳟上也有类似报道，即低添加量（25~500 mg/kg）的茶多酚对全鱼粗脂肪含量无显著影响，但高添加量（1 000 mg/kg）的茶多酚显著降低了全鱼粗脂肪含量[6]。在低添加量（25、50 mg/kg）条件下，茶多酚提高了团头鲂幼鱼肌肉粗蛋白质含量，但是对肌肉粗脂肪含量无显著影响[8]。可见，茶多酚对鱼类体脂沉积的影响与茶多酚的添加量有关，高添加量的茶多酚通常会抑制脂肪在鱼体的沉积。

3.3　茶多酚对奥尼罗非鱼免疫性能和抗病力的影响

已有研究表明，茶多酚具有提高鱼体免疫性能的作用。例如：在虹鳟饲料中添加25~100 mg/kg茶多酚，显著提高了肝脏SOD、AKP和酸性磷酸酶(ACP)活性[6]；在团头鲂饲料中添加50 m/kg茶多酚，显著提高了氨氮胁迫下血清SOD活性，增强了鱼体抗应激能力[30]；在青鱼饲料中添加100 mg/kg茶多酚，显著提高了血清SOD活性，降低了血清MDA含量[15]。本试验中，添加200~800 mg/kg茶多酚显著提高了奥尼罗非鱼血清SOD和LZM活性，降低了血清MDA含量，提高了抗嗜水气单胞菌感染能力。茶多酚降低了嗜水气单胞菌攻毒后奥尼罗非鱼的死亡率，一方面与茶多酚提高了奥尼罗非鱼的免疫性能有关，另一方面可能与茶多酚的抑菌特性有关，已有体外试验表明，茶多酚能够抑制嗜水气单胞菌生长[31]。在以绿茶或绿茶提取物形式补充茶多酚的试验中也发现有类似结果。饲料中添加1%~5%绿茶提取物，增强了许氏平鲉血浆LZM活性，缩短了2-苯乙醇浸泡后的应激恢复时间，降低了鱼体空气暴露后的死亡率[7]。斑点叉尾鮰（*Ictalurus punctatus*）摄食含1%、2%、4%绿茶的饲料

后，嗜水气单胞菌攻毒后的死亡率显著降低[32]。罗非鱼摄食含 0.125~2.000 g/kg 绿茶的饲料后，嗜水气单胞菌攻毒后的死亡率也显著降低，并且表现出对绿茶的剂量依赖性[33]。

4 结 论

① 饲料中添加 200 mg/kg 茶多酚具有促进奥尼罗非鱼生长的趋势；

② 饲料中添加 400 mg/kg 茶多酚可增加奥尼罗非鱼的免疫性能，降低嗜水气单胞菌攻毒后的累积死亡率；

③ 在本试验条件下，奥尼罗非鱼饲料中茶多酚的建议添加量为 200~400 mg/kg。

参考文献:

[1] KHAN N,MUKHTAR H.Tea polyphenols for health promotion[J].Life Sciences,2007,81(7):519–533.

[2] FREI B,HIGDON J V.Antioxidant activity of tea polyphenols *in vivo*:evidence from animal studies[J].The Journal of Nutrition,2003,133(10):3275S–3284S.

[3] BOSE M,LAMBERT J D,JU J,et al.The major green tea polyphenol,(−)-epigallocatechin-3-gallate,inhibits obesity,metabolic syndrome,and fatty liver disease in high-fat–fed mice[J].The Journal of Nutrition,2008,138(9):1677–1683.

[4] RIEGSECKER S,WICZYNSKI D,KAPLAN M J,et al.Potential benefits of green tea polyphenol EGCG in the prevention and treatment of vascular inflammation in rheumatoid arthritis[J].Life Sciences,2013,93(8):307–312.

[5] PENG A,YE T,RAKHEJA D,et al.The green tea polyphenol (−)-epigallocatechin-3-gallate ameliorates experimental immune-mediated glomerulonephritis[J].Kidney International,2011,80(6):601–611.

[6] 徐奇友,李婵,许红,等.茶多酚对虹鳟生长性能、生化指标和非特异性免疫指标的影响[J].动物营养学报,2008,20(5):547–553.

[7] HWANG J H,LEE S W,RHA S J,et al.Dietary green tea extract improves growth performance,body composition,and stress recovery in the juvenile black rockfish,*Sebastes schlegeli*[J].Aquaculture International,2013,21(3):525–538.

[8] 龙萌,侯杰,苏玉晶,等.酵母硒和茶多酚对团头鲂幼鱼生长和生长轴基因表达、营养品质

及抗病力的影响[J].水产学报,2015,39(1):97–107.

[9] 龙萌,侯杰,苏玉晶,等.日粮添加酵母硒和茶多酚对团头鲂幼鱼肝抗氧化酶活性及其基因表达的影响[J].中国水产科学,2015,22(2):259–268.

[10] 陈昌福,王玉堂.水产养殖中抗生素类药物使用现状、问题与对策(连载一)[J].中国水产,2015(4):65–68.

[11] 董金甫,李瑶卿,洪绍梅.茶多酚(TPP)对 8 种致病菌最低抑制浓度的研究[J].食品科学,1995,16(1):6–12.

[12] 吴林怡.EGCG 在草鱼体内的代谢及其对致病菌抑菌功效[D].硕士学位论文.合肥:安徽农业大学,2015.

[13] SHEIKHZADEH N,NOFOUZI K,DELAZAR A,et al.Immunomodulatory effects of decaffeinated green tea (*Camellia sinensis*) on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J].Fish & Shellfish Immunology,2011,31(6):1268–1269.

[14] 刘振兴,柯浩,郝乐,等.茶多酚对罗非鱼生长性能、抗氧化功能和非特异免疫指标的影响[J].广东农业科学,2012,39(23):113–115.

[15] 李金龙.茶多酚对青鱼幼鱼生长、免疫及脂肪代谢的影响[D].硕士学位论文.长沙:湖南农业大学,2013.

[16] ZHENG Q M,HAN C Y,ZHONG Y M,et al.Effects of dietary supplementation with green tea waste on growth,digestive enzyme and lipid metabolism of juvenile hybrid tilapia,*Oreochromis niloticus*×*O.aureus*[J].Fish Physiology and Biochemistry,2017,43(2):361–371.

[17] WELKER T L,WAN X C,ZHOU Y B,et al.Effect of dietary green tea supplementation on growth,fat content,and muscle fatty acid profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J].Aquaculture International,2016,25(3):1073–1094.

[18] MAITRA S,RAY A K.Inhibition of digestive enzymes in rohu,*Labeo rohita* (Hamilton),fingerlings by tannin:an *in vitro* study[J].Aquaculture Research,2003,34(1):93–95.

[19] KUO K L,WENG M S,CHIANG C T,et al.Comparative studies on the hypolipidemic and growth suppressive effects of oolong,black,pu-erh,and green tea leaves in rats[J].Journal of

Agricultural and Food Chemistry,2005,53(2):480–489.

[20] OHNISHI R,IGA K,KIRIYAMA S.Green tea polyphenols reduce protein digestibility and suppress cecal fermentation in rats[J].Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi,2005,58(4):199–208.

[21] FREJNAGEL S,Wroblewska M.Comparative effect of green tea,chokeberry and honeysuckle polyphenols on nutrients and mineral absorption and digestibility in rats[J].Annals of Nutrition and Metabolism,2010,56(3):163–169.

[22] 汪小红,武书庚,王晓翠,等.茶多酚的生物学功能及其在家禽生产中的应用[J].动物营养学报,2016,28(6):1641–1648.

[23] FRAZIER R A,DEAVILLE E R,GREEN R J,et al.Interactions of tea tannins and condensed tannins with proteins[J].Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,2010,51(2):490–495.

[24] LACASSAGNE L,FRANCESCH M,CARRÉ B,et al.Utilization of tannin-containing and tannin-free faba beans (*Vicia faba*) by young chicks:effects of pelleting feeds on energy,protein and starch digestibility[J].Animal Feed Science and Technology,1988,20(1):59–68.

[25] ŞENGIL I A,ÖZACAR M.Competitive biosorption of Pb^{2+},Cu^{2+} and Zn^{2+} ions from aqueous solutions onto valonia tannin resin[J].Journal of Hazardous Materials,2009,166(2/3):1488–1494.

[26] SHEN C L,CAO J J,DAGDA R Y,et al.Green tea polyphenols benefits body composition and improves bone quality in long-term high-fat diet-induced obese rats[J].Nutrition Research,2012,32(6):448–457.

[27] WU T,GUO Y,LIU R,et al.Black tea polyphenols and polysaccharides improve body composition,increase fecal fatty acid,and regulate fat metabolism in high-fat diet-induced obese rats[J].Food & Function,2016,7(5):2469–2478.

[28] TIAN C,YE X L,ZHANG R,et al.Green tea polyphenols reduced fat deposits in high fat-fed rats via erk1/2-PPARγ-adiponectin pathway[J].PLoS One,2013,8(1):e53796.

[29] 黄进宝,万蓓,葛高飞.茶多酚对肉鸡血脂水平、体脂分布及组织脂肪酸组成的影响[J].食品工业科技,2017,38(15):290–295.

[30] LONG M,LIN W,HOU J,et al.Dietary supplementation with selenium yeast and tea

polyphenols improve growth performance and nitrite tolerance of *Wuchang* bream (*Megalobrama amblycephala*)[J].Fish & Shellfish Immunology,2017,68:74–83.

[31] 卢春霞,王洪新,吕文平,等.复方植物提取物对嗜水气单胞菌的抑菌作用[J].食品与生物技术学报,2011,30(2):178–184.

[32] ZHANG Y B P,ZHOU Y B,SANG B Y,et al.Effect of dietary Chinese tea on growth performance,disease resistance and muscle fatty acid profile of channel catfish (*Ictalurus punctatus*)[J].Aquaculture International,2015,23(2):683–698.

[33] ABDEL-TAWWAB M,AHMAD M H,SEDEN M E A,et al.Use of green tea,*Camellia sinensis* L.in practical diet for growth and protection of Nile tilapia,*Oreochromis niloticus* (L.),against *Aeromonas hydrophila* infection[J].Journal of the World Aquaculture Society,2010,41(Suppl.2):203–213.

Effects of Tea Polyphenol on Growth, Digestion Function, Immune Performance and Disease Resistance Capability of Hybrid Tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*)

LIANG Gaoyang[1,2,3] LI Xiaoqin[1,2,3] YANG Hang[1,2,3] POOLSAWAT Lumpan[1,2,3] GAO Bowei[1,2,3] LENG Xiangjun[1,2,3*]

(1. *National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education*, *Shanghai Ocean University*, *Shanghai* 201306, *China*; 2. *Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition of the Ministry of Agriculture*, *Shanghai Ocean University*, *Shanghai* 201306, *China*; 3. *Shanghai Collaborative Innovation for Aquatic Animal Genetics and Breeding*, *Shanghai Ocean University*, *Shanghai* 201306, *China*)

Abstract: The objective of the present study was to investigate the effects of tea polyphenol (TP) on the growth, digestion function, immune performance and disease resistance capability of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*). Six experimental diets were designed which were added 0（control group）, 100, 200, 400, 600 and 800 mg/kg TP into a basal diet, and each diet fed to one group of hybrid tilapia with an initial body weight of (6.09±0.07) g for 9 weeks. Each

*Corresponding author, professor, E-mail: xjleng@shou.edu.cn (责任编辑　菅景颖)

group had three replicates and each replicate cultured 25 fish. The results showed that the weight gain rate and feed conversion ratio in supplementing TP groups had no significant changes compared with control group (P>0.05), but the weight gain rate in 100 and 200 mg/kg TP groups showed an increase trend, it in 400 to 800 mg/kg TP groups showed a decrease trend, and 200 mg/kg TP group had the maximal weight gain rate. Whole body moisture, crude protein and ash contents, and crude protein digestibility showed no significant differences among groups (P>0.05), but the high supplemental levels (600 to 800 mg/kg) of TP significantly decreased the whole body ether extract content, the activities of amylase and protease of intestine as well as dry matter digestibility compared with control group (P<0.05). Compared with control group, diet supplemented with 200, 400, 600 and 800 mg/kg TP significantly promoted the activities of superoxide dismutase (SOD) and lysozyme (LZM) in serum (P<0.05), and the serum malonaldehyde (MDA) content was increased firstly and then decreased with the increase of TP supplemental level. The maximum serum SOD activity and the minimum serum MDA content were observed in 200 mg/kg TP group, and the maximum serum LZM activity was observed in 400 mg/kg TP group. After challenged with *Aeromonas hydrophila* for 48 and 96 h, the cumulative mortality was significantly decreased by the supplementation of 200, 400, 600 and 800 mg/kg TP (P<0.05), and 400 mg/kg TP group had the lowest cumulative mortality among groups. In a conclusion, TP can promote the immune performance and reduce the mortality against *Aeromonas hydrophila*, but has no significant effects on growth of hybrid tilapia. The optimal TP supplemental level in diets of hybrid tilapia is suggested to be 200 to 400 mg/kg.

Key words: tea polyphenol; hybrid tilapia; growth; digestibility; immune performance; disease resistance capability